

Marcin Cwynar<sup>1</sup>, Wiktoria Wojciechowska<sup>2</sup>,  
Katarzyna Stolarz<sup>2</sup>, Barbara Wizner<sup>1</sup>, Kalina Kawecka-Jaszcz<sup>2</sup>,  
Jan A. Staessen<sup>3</sup>, Tomasz Grodzicki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

<sup>2</sup>Klinika Kardiologii Instytutu Kardiologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

<sup>3</sup>The Study Coordinating Centre, Hypertension and Cardiovascular Rehabilitation Unit, Department of Molecular and Cardiovascular Research, University of Leuven, Leuven, Belgium

# Wpływ wybranych polimorfizmów genów angiotensynogenu, konwertazy angiotensyny I oraz receptora typu 1 dla angiotensyny II na ciśnienie tętnicze oraz parametry usztywnienia dużych tętnic — zależność od spożycia sodu

Influence of selected genetic polymorphisms of angiotensinogen, angiotensin-converting enzyme and type-1 angiotensin II receptor on arterial pressure and large artery stiffness parameters — depending on sodium intake

## Summary

**Background** In a population-based and family-based approach we investigated, to what extent blood pressure and large artery stiffness relate to the AGT G-6A, ACE D/I and AGT1R A1166C gene polymorphisms, as well as the interaction between genetic and environmental factors and their joint influence on the aforementioned parameters.

**Materials and methods** We recruited 52 families (82 parents and 103 offspring). Peripheral pressures were derived from conventional and 24h-ambulatory blood pressure measurements, respectively. Central pressures and large artery stiffness parameters were assessed by pulse wave analysis. All participants collected a 24-h urine sample for the measurement of sodium excretion as well as blood sample for the evaluation of genetic analyses.

**Results** In single gene analyzes, significant findings were revealed for ACE D/I polymorphism with respect to 24h-ambulatory and central systolic (SBP<sub>A</sub>, SBP<sub>C</sub>) and pulse (PP<sub>A</sub>, PP<sub>C</sub>) pressures. In further analyzes, we found an interaction between ACE D/I genotype and 24-h urinary sodium excretion in relation to SBP<sub>C</sub>, conventional pulse pressure (PP<sub>P</sub>), PP<sub>C</sub> and augmentation pressure (AG). In the third tertile of the distribution of sodium excretion we observed significantly increased SBP<sub>C</sub>, PP<sub>P</sub>, PP<sub>A</sub>, PP<sub>C</sub> and AG in ACE II homozygotes compared to D allele carriers, which was not observed in first and second tertile.

**Conclusions** In the examined group, the interactions between D/I polymorphism of the ACE gene and daily sodium excretion in the urine were revealed, in relation to the parameters of blood pressure and arterial wall stiffness. The D allele of ACE gene showed a protective role in the group of subjects with high daily sodium intake.

**key words:** ACE, D/I polymorphism, arterial pressure, arterial stiffness, sodium intake

*Arterial Hypertension 2006, vol. 10, no 2, pages 99–110.*

Adres do korespondencji: dr med. Marcin Cwynar  
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii  
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego  
ul. Śniadeckich 10, 31–351 Kraków  
tel.: (012) 421–11–93; faks: (012) 423–10–80  
e-mail: marcincw@poczta.onet.pl



Copyright © 2006 Via Medica, ISSN 1428–5851

## Wstęp

Obciążenie rodzinne i uwarunkowania środowiskowe są jednymi z najistotniejszych elementów predysponujących do rozwoju nadciśnienia tętniczego. Niejednorodność etiopatogenezy oraz zróżnicowanie obrazu klinicznego nadciśnienia wskazują, że pierwotne nadciśnienie tętnicze ma podłoże wielogenowe i jest wynikiem skumulowanego oddziaływania większej liczby genów oraz środowiska, a jedynie w rzadkich przypadkach wynika z mutacji w obrębie pojedynczego genu [1, 2].

Obok centralnego systemu nerwowego, gruczołów dokrewnych oraz dużych naczyń tętniczych i mikrokrążenia, istotną rolę w patofizjologii pierwotnego nadciśnienia tętniczego odgrywają nerki [3]. Sódowrażliwość ciśnienia tętniczego oznacza jego wzrost pod wpływem sodu dostarczanego do organizmu, doustnie bądź parenteralnie, a może być ona skutkiem rzadkich mutacji w obrębie pojedynczego genu, choć częściej jest uwarunkowana mutacjami w zakresie wielu genów. Genetycznie uwarunkowane sódowrażliwe postacie nadciśnienia tętniczego mogą wynikać z mutacji białek cytoskieletu, przekaźników jonowych lub czynników hormonalnych uczestniczących w gospodarce sodowej, a tym samym w regulacji objętości płynów pozakomórkowych, prowadząc do upośledzenia filtracji kłębuszkowej lub nasilenia cewkowej reabsorpcji sodu. Nadmierne obciążenie sodem, oprócz rozwoju nadciśnienia, skutkuje również usztywnieniem ścian dużych naczyń tętniczych, co oceniano w modelach zwierzęcych oraz u ludzi [1, 2].

W ostatnich latach ukazały się wyniki licznych badań dotyczących związku genów kandydatów z ciśnieniem tętniczym. Szczególne zainteresowanie wzbudza związek polimorfizmów genów kodujących wybrane składowe układu renina–angiotensyna: angiotensynogen (AGT), konwertaza angiotensyny I (ACE, *angiotensin-converting enzyme*) oraz receptor AT<sub>1</sub> dla angiotensyny II (AGT1R) z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia, zmian narządowych i chorób układu sercowo-naczyniowego oraz ze skutecznością ich prewencji i leczenia [1, 4].

Jeunemaitre i wsp. [5] po raz pierwszy opisali dwa polimorfizmy genu AGT u rodzeństw z Francji oraz ze stanu Utah w Stanach Zjednoczonych, wskazując na szczególne znaczenie mutacji punktowych w pozycjach 521 (cytozyna — tymina) i 704 (tymina — cytozyna) genu AGT, skutkujących zamianą treoniny metioniną w pozycji 174 (T174M) i metioniny treoniną w pozycji 235 (M235T), w predyspozycji do rozwoju nadciśnienia tętniczego. W późniejszych badaniach stwierdzono, że polimorfizm M235T jest ści-

śle sprzężony z inną mutacją genu AGT, w której w allelu T adenina zastępuje guaninę (G-6A) w regionie promotorowym, 6 nukleotydów od miejsca inicjacji transkrypcji [6]. Jednakże liczne badania dotyczące związku polimorfizmu G-6A z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia tętniczego oraz usztywnienia ścian dużych tętnic nie doprowadziły do uzyskania jednoznacznych i powtarzalnych wyników [7, 8].

Główny nacisk w badaniach nad wpływem genu ACE na predyspozycję do rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego i chorób układu sercowo-naczyniowego został położony na polimorfizm delecyjno/insercyjny (D/I). Mimo że w aspekcie związku z predyspozycją do rozwoju nadciśnienia tętniczego, powikłań narządowych nadciśnienia oraz chorób układu sercowo-naczyniowego jest on jednym z najbardziej przebadanych polimorfizmów genetycznych, jedynie pojedyncze prace dotyczą interakcji polimorfizmu D/I z czynnikami środowiskowymi, na przykład z zawartością sodu w diecie, mogącymi w istotny sposób modyfikować jego ekspresję [1].

Także rola polimorfizmu A1166C genu AGT1R jako czynnika ryzyka rozwoju nadciśnienia i chorób układu krążenia nadal jest nie do końca wyjaśniona, co znajduje potwierdzenie w rozbieżnych wynikach dostępnych badań [9].

Celem pracy było ustalenie, na podstawie analizy asocjacji oraz analizy rodzin, związku polimorfizmów G-6A genu AGT, D/I genu ACE i A1166C genu AGT1R z wartościami ciśnienia tętniczego i z parametrami usztywnienia ścian dużych tętnic, ocena zależności między czynnikami genetycznymi, czynnikiem środowiskowym (spożycie sodu) i płcią oraz analiza ich łącznego wpływu na parametry ciśnieniowe i usztywnienia tętnic.

## Materiał i metody

Praca została zrealizowana w ramach polsko-flamandzkiego badania populacyjnego, dotyczącego wpływu wybranych genów na własności elastyczne ścian dużych naczyń tętniczych — *A Polish-Flemish population study on the role of candidate genes in the determination on the wall characteristics of the central arteries*. Osoby zakwalifikowane do badania uczestniczyły w europejskim projekcie badawczym, dotyczącym uwarunkowań genetycznych nadciśnienia tętniczego — *European Project on Genes in Hypertension* (EPOGH) [10–12].

Do badania włączono rodziny dwupokoleniowe (nuklearne), składające się z obojga lub tylko jednego z rodziców oraz z jednego lub dwóch potomków, w wieku od 18 do 60 roku życia. Badaniem objęto

190 osób, tworzących strukturę 52 rodzin. Z analizy statystycznej wyłączono 5 osób: 2 osoby ze źle technicznie wykonanymi pomiarami elastyczności ścian tętnic, 2 osoby wskutek niezgodności mendlowskiej w zakresie co najmniej jednego z badanych genotypów oraz 1 osobę w związku z brakiem oznaczenia ocenianych genotypów. Analizą statystyczną objęto więc grupę 185 osób, należących do 52 rodzin.

Wszyscy badani członkowie rodzin otrzymali do wypełnienia standardowy kwestionariusz epidemiologiczny. Przy użyciu kwestionariusza, dla każdego z badanych obliczono dzienne spożycie etanolu. Spożywanie alkoholu definiowano jako regularne, jeżeli dzienne spożycie było równe lub przekraczało 5 g czystego etanolu. Za regularnych palaczy tytoniu uznano osoby, które wypalały co najmniej jednego papierosa dziennie.

Pomiarów ciśnienia tętniczego dokonano sfigmomanometrem rtęciowym, zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (PTNT) [13]. Wartości ciśnienia tętniczego w pomiarach tradycyjnych obliczono jako średnią z 5 pomiarów uzyskanych w warunkach domowych. Ciśnienie tętna ( $PP_p$ , *pulse pressure*) wyliczono jako różnicę średniego ciśnienia skurczowego ( $SBP_p$ , *systolic blood pressure*) i rozkurczowego ( $DBP_p$ , *diastolic blood pressure*), natomiast średnie ciśnienie tętnicze ( $MBP_p$ , *mean blood pressure*) — jako sumę  $DBP_p$  i  $1/3 PP_p$ . Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano, jeżeli wartość ciśnienia tętniczego w pomiarach tradycyjnych wynosiła  $\geq 140$  mm Hg dla  $SBP_p$  lub  $\geq 90$  mm Hg dla  $DBP_p$  i/lub jeżeli pacjent otrzymywał leki przeciwnadciśnieniowe.

Całodobowe automatyczne monitorowanie ciśnienia tętniczego (ABPM, *ambulatory blood pressure monitoring*) wykonano z zastosowaniem aparatu SpaceLabs 90207 (Redmond, WA, Stany Zjednoczone). Pomiarów ciśnienia tętniczego i tętna dokonywano co 15 minut w ciągu dnia (od 8.00 do 22.00) i co 30 minut w nocy (od 22.00 do 8.00). Na podstawie uzyskanych zapisów uzyskano uśrednione wartości ciśnienia skurczowego ( $SBP_A$ ), rozkurczowego ( $DBP_A$ ) oraz ciśnienia tętna ( $PP_A$ ) w okresie całej doby.

Pomiarów własności elastycznych ścian dużych naczyń tętniczych dokonano po 15 minutach odpoczynku badanego w pozycji siedzącej, przy zastosowaniu modułu *Pulse Wave Analysis* (PWA) wchodzącego w skład aparatury SphygmoCor, wersja 6.31 (AtCor Medical Pty. Ltd., West Ryde, Nowa Południowa Walia, Australia). Zapisy kształtów fal tętna przeprowadzono w okresie 8-sekundowym, przy zastosowaniu techniki tonometrii aplanacyjnej. Pomiarów dokonywano na tętnicy promieniowej dominu-

jącej kończyny górnej przy użyciu jednoelementowego czujnika ciśnieniowego SPC-301 (Millar Instruments, Inc., Houston, Teksas, Stany Zjednoczone) [14]. Spośród wskaźników otrzymanych podczas badania, w analizach statystycznych uwzględniono wartości centralnych (uzyskanych w aorcie wstępującej) parametrów ciśnieniowych, takich jak: ciśnienie skurczowe ( $SBP_C$ ), ciśnienie rozkurczowe ( $DBP_C$ ) i ciśnienie tętna ( $PP_C$ ) oraz parametrów usztywnienia tętnic: wzmocnienia fali aortalnej ( $AG$ , *augmentation*), wskaźników obwodowego ( $AIx_p$ , *peripheral augmentation index*) i centralnego ( $AIx_c$ , *central augmentation index*) wzmocnienia fali. Wzmocnienie fali aortalnej (mm Hg) wyliczono jako różnicę między późnym a wczesnym szczytem skurczowym na ramieniu wstępującym aortalnej fali tętna. Wskaźnik obwodowego wzmocnienia fali (%) wyliczono jako iloraz późnego i wczesnego szczytu skurczowego na ramieniu wstępującym promieniowej fali ciśnieniowej, natomiast  $AIx_c$  (%) — jako iloraz  $AG$  i  $PP_C$ .

W badanej populacji oznaczono stężenie glukozy i lipidów na czczo w surowicy. W analizowanej populacji nie było osób z rozpoznaniem cukrzycy. Na podstawie 24-godzinnej zbiórki moczu określono średnie dobowe wydalanie sodu i potasu. Na podstawie wartości stężeń sodu i potasu wyliczono dobowy stosunek sodu do potasu w moczu. Luft i wsp. [15] w swoim badaniu wykazali, że w populacji dobowe wydalanie sodu z moczem w sposób adekwatny odzwierciedla ilość sodu przyjmowanego w diecie. W badanej grupie dokonano także oznaczeń grupy krwi w układzie ABO i Rh, zakładając dziedziczenie mendlowskie, w celu wykluczenia z analiz dzieci wychowywanych przez osoby niebędące ich biologicznymi rodzicami.

W celu wykonania badań genetycznych krew obwodową pobrano na wersanian dwusodowy (EDTA, *ethylene diamine tetra acetate*). Izolacji genomowego DNA z krwi obwodowej dokonano metodą enzymatyczną, za pomocą zestawu firmy QIAGEN (*QIAamp DNA Blood Mini Kit*). Detekcji polimorfizmów G-6A genu *AGT*, D/I genu *ACE* oraz A1166C genu *AGT1R* dokonano przy zastosowaniu uprzednio opisanych metod [16, 17].

Zarządzanie bazą danych i analizy statystyczne prowadzono przy użyciu oprogramowania SAS System, wersja 8.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, Stany Zjednoczone). Zgodność rozkładów analizowanych genotypów z rozkładami przewidywanymi według prawa Hardy'ego-Weinberga potwierdzono przy użyciu testu  $\chi^2$  Pearsona. Analizę asocjacji zmiennych z badanymi polimorfizmami genetycznymi przeprowadzono w populacji ogólnej oraz osobno dla każdej z grup pokoleniowych. Wybrane parametry ciśnieniowe oraz usztywnienia

ścian naczyń porównywano w zależności od genotypów analizowanych polimorfizmów przy użyciu analizy wariancji. Następnie w modelu regresji wieloczynnikowej uwzględniono zmienne powiązane, wyznaczając dla trzech grup genotypowych wystandaryzowane wartości średnie oraz standardowy błąd pomiarowy. W związku ze strukturą analizowanej populacji, składającej się z rodzin, a co za tym idzie z bezpośrednio ze sobą spokrewnionych par rodzeństwa, w kolejnym modelu regresji wieloczynnikowej uwzględniono współczynniki korelacji badanego fenotypu między osobami spokrewnionymi (PROC GENMOD oprogramowania SAS) [18]. W dalszej części analiz, w modelu regresji wieloczynnikowej (PROC GENMOD), analizowano interakcje między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi oraz między polimorfizmami genetycznymi i płcią, w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych oraz usztywnienia ścian tętnic.

Wyniki uzyskane w analizie asocjacji w populacji potomków poddano weryfikacji w teście nierównowagi transmisji, w rozwinięciu i przystosowaniu do oceny zmiennych ciągłych (QTDT, *transmission disequilibrium test for quantitative traits*) [19].

## Wyniki

Badana populacja objęła 185 osób pochodzących z 52 rodzin i składała się 82 rodziców (33 ojców, 49 matek) oraz 103 ich potomków (47 synów, 56 córek). Średni wiek rodziców wynosił  $51,8 \pm 4,9$  roku, zaś potomków  $26,4 \pm 5,0$  roku. Dane dotyczące charakterystyki klinicznej oraz czynników stylu życia w badanej populacji, z uwzględnieniem podziału na grupy pokoleniowe i płeć, zestawiono w tabelach I i II.

Rozkład częstości genotypów analizowanych polimorfizmów genów *AGT*, *ACE* i *AGTIR* w badanej populacji był zgodny z rozkładem przewidywanym prawem Hardy'ego-Weinberga: polimorfizm G-6A genu *AGT* ( $p = 0,52$ ), polimorfizm D/I genu *ACE* ( $p = 0,57$ ) oraz polimorfizm A1166C genu *AGTIR* ( $p = 0,89$ ).

Badani z prawidłowymi wartościami ciśnienia nie różnili się w istotny sposób od chorych z nadciśnieniem tętniczym pod względem częstości występowania alleli ( $p \geq 0,25$ ) i genotypów ( $p \geq 0,36$ ) badanych polimorfizmów genetycznych (tab. III). Podobnie między pokoleniami ( $p \geq 0,13$ ) oraz w zależności od płci ( $p \geq 0,21$ ) nie stwierdzono różnic w rozkładzie analizowanych alleli. Również rozkład genotypów

**Tabela I.** Charakterystyka kliniczna i czynniki stylu życia w badanej populacji. Dane przedstawiono jako średnie arytmetyczne  $\pm$  SD lub jako liczba osób (odsetek)

**Table I.** Characteristics of the study participants. Values are arithmetic means  $\pm$  SD or percentage of subjects

	Ojcowie n = 33	Matki n = 49	Synowie n = 47	Córki n = 56	P <sub>pok</sub>
<b>Dane kliniczne</b>					
Wiek (lata)	52,4 $\pm$ 4,3	51,5 $\pm$ 5,3	25,8 $\pm$ 4,2	26,8 $\pm$ 5,6	< 0,0001
Wzrost [cm]	175,2 $\pm$ 5,0	162,2 $\pm$ 5,1†	179,2 $\pm$ 6,2	165,8 $\pm$ 5,6†	0,0005
Masa ciała [kg]	86,3 $\pm$ 13,5	74,4 $\pm$ 13,9†	76,2 $\pm$ 10,2	62,7 $\pm$ 10,3†	< 0,0001
Wskaźnik masy ciała (BMI) [kg/m <sup>2</sup> ]	28,1 $\pm$ 4,2	28,4 $\pm$ 5,3	23,7 $\pm$ 2,7	23,7 $\pm$ 3,5	< 0,0001
Częstość rytmu serca (uderzenia/min)	71,1 $\pm$ 11,8	73,2 $\pm$ 10,4	73,5 $\pm$ 12,7	76,4 $\pm$ 11,0	NS
SBP <sub>p</sub> [mm Hg] <sup>#</sup>	140,5 $\pm$ 17,1	135,7 $\pm$ 16,8	126,7 $\pm$ 9,5	119,0 $\pm$ 14,2†	< 0,0001
DBP <sub>p</sub> [mm Hg] <sup>#</sup>	88,0 $\pm$ 10,1	86,4 $\pm$ 9,3	78,2 $\pm$ 9,8	74,2 $\pm$ 12,1	< 0,0001
MBP <sub>p</sub> [mm Hg] <sup>#</sup>	105,5 $\pm$ 11,3	102,8 $\pm$ 11,1	94,4 $\pm$ 7,9	89,2 $\pm$ 12,2*	< 0,0001
PP <sub>p</sub> [mm Hg] <sup>#</sup>	52,6 $\pm$ 12,9	49,3 $\pm$ 11,6	48,4 $\pm$ 11,8	44,7 $\pm$ 8,7	0,01
Nadciśnienie tętnicze	23 (69,7%)	29 (59,2%)	9 (19,1%)	8 (14,3%)	< 0,0001
Leczenie przeciwnadciśnieniowe	11 (33,3%)	14 (28,6%)	2 (4,3%)	1 (1,8%)	< 0,0001
<b>Czynniki stylu życia</b>					
Palenie tytoniu	13 (39,4%)	13 (26,5%)	14 (29,8%)	9 (16,1%)	NS
Regularne spożycie alkoholu	14 (42,4%)	2 (4,1%)†	21 (44,5%)	0†	NS

<sup>#</sup>Średnia z 5 pomiarów ciśnienia tętniczego otrzymanych podczas jednej wizyty domowej

\* $p < 0,05$ ; † $p < 0,01$ ; ‡ $p < 0,001$  dla różnicy między płciami w obrębie pokolenia

P<sub>pok</sub> —  $p$  dla różnicy między pokoleniami

**Tabela II.** Wyniki badań specjalistycznych w badanej populacji. Dane przedstawiono jako średnie arytmetyczne  $\pm$  SD  
**Table II.** Characteristics of the study participants. Values are arithmetic means  $\pm$  SD

	Ojcowie n = 33	Matki n = 49	Synowie n = 47	Córki n = 56	p <sub>pok</sub>
<b>24-godzinne monitorowanie ciśnienia tętniczego</b>					
SBP <sub>A</sub> [mm Hg]	125,7 $\pm$ 9,9	121,3 $\pm$ 12,3	122,6 $\pm$ 6,7	113,5 $\pm$ 7,6†	0,0003
DBP <sub>A</sub> [mm Hg]	77,7 $\pm$ 6,9	74,7 $\pm$ 8,1	70,1 $\pm$ 5,6	66,8 $\pm$ 6,1†	< 0,0001
PP <sub>A</sub> [mm Hg]	48,1 $\pm$ 5,3	46,6 $\pm$ 6,5	52,5 $\pm$ 5,0	46,8 $\pm$ 4,4†	0,01
<b>Analiza fali tętna</b>					
SBP <sub>C</sub> [mm Hg]	128,5 $\pm$ 15,0	127,0 $\pm$ 17,0	108,9 $\pm$ 8,7	104,3 $\pm$ 15,6	< 0,0001
DBP <sub>C</sub> [mm Hg]	89,0 $\pm$ 8,6	87,4 $\pm$ 9,8	79,7 $\pm$ 11,1	75,4 $\pm$ 13,1	< 0,0001
PP <sub>C</sub> [mm Hg]	39,5 $\pm$ 11,8	39,6 $\pm$ 11,6	29,2 $\pm$ 6,9	28,9 $\pm$ 6,6	< 0,0001
AG [mm Hg]	9,5 $\pm$ 6,6	12,7 $\pm$ 7,1*	0,03 $\pm$ 3,4	3,4 $\pm$ 4,3†	< 0,0001
AIx <sub>P</sub> (%)	79,1 $\pm$ 16,0	88,8 $\pm$ 15,4†	49,2 $\pm$ 16,5	59,7 $\pm$ 16,9†	< 0,0001
AIx <sub>C</sub> (%)	22,0 $\pm$ 11,6	30,4 $\pm$ 11,0†	-0,45 $\pm$ 10,9	10,3 $\pm$ 13,4†	< 0,0001
<b>Dane biochemiczne</b>					
Stężenie glukozy na czczo [mmol/l]	5,0 $\pm$ 1,1	4,9 $\pm$ 1,1	4,4 $\pm$ 0,8	4,4 $\pm$ 0,8	< 0,0001
Stężenie cholesterolu całkowitego [mmol/l]	5,6 $\pm$ 1,1	5,4 $\pm$ 1,1	4,4 $\pm$ 0,8	4,7 $\pm$ 1,1	< 0,0001
Stężenie triglicerydów [mmol/l]	1,9 $\pm$ 1,2	1,6 $\pm$ 1,2	1,2 $\pm$ 0,8	0,8 $\pm$ 0,5†	< 0,0001
Stężenie cholesterolu frakcji LDL [mmol/l]	3,3 $\pm$ 1,1	3,2 $\pm$ 1,0	2,4 $\pm$ 0,8	2,6 $\pm$ 0,9	< 0,0001
Stężenie cholesterolu frakcji HDL [mmol/l]	1,4 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,4*	1,5 $\pm$ 0,3	1,7 $\pm$ 0,3*	NS
Dobowa zbiórka moczu — objętość (l)†	1,58 $\pm$ 0,45	1,44 $\pm$ 0,50	1,57 $\pm$ 0,56	1,38 $\pm$ 0,64	NS
Wydalenie Na <sup>+</sup> [mmol]	299,6 $\pm$ 94,3	211,2 $\pm$ 67,5†	275,5 $\pm$ 76,9	203,8 $\pm$ 64,7†	NS
Wydalenie K <sup>+</sup> [mmol]	77,3 $\pm$ 26,8	59,0 $\pm$ 19,9†	72,2 $\pm$ 26,6	56,2 $\pm$ 16,8†	NS
Stosunek Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	4,1 $\pm$ 1,3	3,8 $\pm$ 1,1	4,2 $\pm$ 1,5	3,8 $\pm$ 1,4	NS

\*p < 0,05; †p < 0,01; ‡p < 0,001 dla różnicy między płciami w obrębie pokolenia; p<sub>pok</sub> — p dla różnicy między pokoleniami; \* — liczba osób z 24-godzinną zbiórką moczu wynosiła 181

analizowanych polimorfizmów nie różnił się między pokoleniami (p  $\geq$  0,10) oraz płciami (p  $\geq$  0,43).

### Polimorfizm G-6A genu AGT

W populacji ogólnej oraz w grupach pokoleniowych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych polimorfizmu G-6A genu AGT w zakresie SBP (p  $\geq$  0,21), DBP (p  $\geq$  0,12) oraz PP (p  $\geq$  0,42), uzyskanych metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnego zapisu i metodą analizy fali tętna oraz AG (p  $\geq$  0,19), AIx<sub>P</sub> (p  $\geq$  0,09) i AIx<sub>C</sub> (p  $\geq$  0,08).

### Polimorfizm D/I genu ACE

W analizach asocjacji przeprowadzonych w populacji ogólnej, wśród rodziców oraz dzieci nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych

w zakresie badanego polimorfizmu a DBP, uzyskanych metodą konwencjonalną (p  $\geq$  0,38), podczas 24-godzinnego zapisu (p  $\geq$  0,37) oraz metodą analizy fali tętna (p  $\geq$  0,22).

Jednakże analizy przeprowadzone między poszczególnymi genotypami wykazały istotnie niższe wartości SBP<sub>C</sub> w populacji ogólnej (114,3  $\pm$  0,8 vs. 117,7  $\pm$  1,2 mm Hg; p = 0,02), rodziców (124,7  $\pm$  1,6 vs. 130,3  $\pm$  2,1 mm Hg; p = 0,02) i dzieci (104,8  $\pm$  0,9 vs. 107,6  $\pm$  0,9 mm Hg; p = 0,03) oraz SBP<sub>A</sub> w grupie rodziców (120,0  $\pm$  1,5 vs. 124,0  $\pm$  1,9 mm Hg; p = 0,05), u osób z genotypem DD w porównaniu z osobami z genotypem II. W populacji ogólnej, wśród rodziców oraz ich potomków nie stwierdzono istotnych różnic między genotypami DD a II w odniesieniu do wartości SBP<sub>P</sub> (p  $\geq$  0,50).

W analizach dotyczących PP, u osób z genotypem DD w porównaniu z osobami z genotypem II, wyka-



**Tabela III.** Rozkład alleli i genotypów polimorfizmów G-6A genu *AGT*, D/I genu *ACE* oraz A1166C genu *AGT1R* w badanej populacji oraz w grupach z prawidłowym ciśnieniem tętniczym i z nadciśnieniem. Dane przedstawiono jako liczbę alleli i genotypów oraz odsetek (%)

**Table III.** Allele and genotype frequencies of *AGT* G-6A, *ACE* D/I and *AGT1R* A1166C gene polymorphism in the all population, hypertensive and normotensive subjects. Values indicate number and percentage of alleles and genotypes

Gen		Allele		Genotypy		
<i>ATG G-6A</i>		<b>A</b>	<b>G</b>	<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>
	Ogółem	221 (59,7)	149 (40,3)	69 (37,3)	83 (44,9)	33 (17,8)
	Prawidłowe ciśnienie tętnicze	139 (59,9)	93 (40,1)	45 (38,8)	49 (42,2)	22 (19,0)
	Nadciśnienie tętnicze	82 (59,4)	56 (40,6)	24 (34,8)	34 (49,3)	11 (15,9)
<i>ACE D/I</i>		<b>D</b>	<b>I</b>	<b>DD</b>	<b>DI</b>	<b>II</b>
	Ogółem	184 (49,7)	186 (50,3)	43 (23,2)	98 (53,0)	44 (23,8)
	Prawidłowe ciśnienie tętnicze	110 (47,4)	122 (53,6)	23 (19,8)	64 (55,2)	29 (25,0)
	Nadciśnienie tętnicze	74 (53,6)	64 (46,4)	20 (29,0)	34 (49,3)	15 (21,7)
<i>AGT1R A1166C</i>		<b>A</b>	<b>C</b>	<b>AA</b>	<b>AC</b>	<b>CC</b>
	Ogółem	291 (78,6)	79 (21,4)	114 (61,6)	63 (34,1)	8 (4,3)
	Prawidłowe ciśnienie tętnicze	181 (78,0)	51 (22,0)	70 (60,3)	41 (35,4)	5 (4,3)
	Nadciśnienie tętnicze	110 (79,7)	28 (20,3)	44 (63,8)	22 (31,9)	3 (4,3)

ziano istotnie niższe wartości  $PP_C$  w populacji ogólnej ( $31,2 \pm 0,9$  vs.  $35,7 \pm 1,4$  mm Hg;  $p = 0,009$ ), rodziców ( $36,0 \pm 1,3$  vs.  $41,4 \pm 2,3$  mm Hg;  $p = 0,05$ ) i dzieci ( $27,0 \pm 1,2$  vs.  $30,8 \pm 1,2$  mm Hg;  $p = 0,02$ ) oraz  $PP_A$  w podgrupie rodziców ( $44,7 \pm 1,2$  vs.  $48,4 \pm 1,3$  mm Hg;  $p = 0,03$ ). W populacji ogólnej, wśród rodziców oraz ich potomków nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy genotypami DD a II w odniesieniu do  $PP_P$  ( $p \geq 0,41$ ).

W teście QTDT potwierdzono pozytywne wyniki analizy asocjacji w pokoleniu potomków dla  $PP_C$  ( $\beta = +2,53$ ,  $p = 0,03$ ) oraz granicznie dla  $SBP_C$  ( $\beta = +1,30$ ,  $p = 0,07$ ) wskazując, że transmisja allelu I wiązała się z wyższymi wartościami  $SBP_C$  i  $PP_C$ .

W dalszych analizach przeprowadzonych w populacji ogólnej, wśród rodziców oraz ich potomków nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między osobami należącymi do poszczególnych grup genotypowych w zakresie polimorfizmu D/I genu *ACE* a wartościami AG ( $p \geq 0,10$ ),  $AIx_P$  ( $p \geq 0,14$ ) oraz  $AIx_C$  ( $p \geq 0,11$ ).

#### Polimorfizm A1166C genu *AGT1R*

W związku z częstością występowania osób homozygotycznych CC polimorfizmu A1166C genu *AGT1R* w badanej populacji wynoszącą 4,3%, zakładając recesywny model efektu fenotypowego, w analizach statystycznych porównywano wyniki uzyskane u osób homozygotycznych AA z nosicielami allelu C.

W populacji ogólnej, wśród rodziców oraz dzieci nie stwierdzono istotnych różnic między osobami homozygotycznymi AA a nosicielami allelu C w odniesieniu do wartości SBP ( $p \geq 0,14$ ), DBP ( $p \geq 0,06$ ) oraz PP ( $p \geq 0,07$ ), uzyskanych metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinnej zapisu i metodą analizy fali tętna oraz AG ( $p \geq 0,37$ ),  $AIx_P$  ( $p \geq 0,22$ ) i  $AIx_C$  ( $p \geq 0,41$ ).

#### Zależności między czynnikami genetycznymi i płcią

W badanej populacji przeprowadzono analizy dotyczące interakcji pomiędzy polimorfizmami G-6A genu *AGT*, D/I genu *ACE* oraz A1166C genu *AGT1R* a płcią badanych osób w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych i usztywnienia ścian tętnic. Powyższe interakcje nie osiągnęły znamienności statystycznej w zakresie parametrów ciśnieniowych ( $p \geq 0,08$ ) ani sztywności ścian tętnic ( $p \geq 0,14$ ) dla żadnego z trzech analizowanych polimorfizmów.

#### Zależności między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi

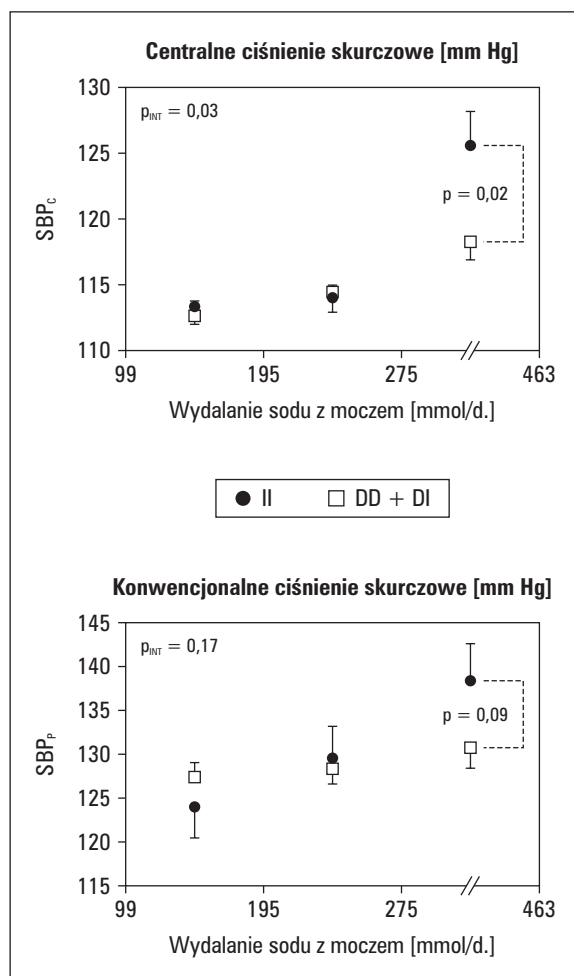
W badanej populacji przeprowadzono analizy dotyczące interakcji pomiędzy polimorfizmami G-6A genu *AGT*, D/I genu *ACE* oraz A1166C genu *AGT1R* a dobowym wydalaniem sodu z moczem, w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych i usztywnienia ścian tętnic.

Analizy przeprowadzone w populacji ogólnej wykazały istotną interakcję polimorfizmu D/I genu *ACE* i dobowego wydalania sodu w odniesieniu do  $SBP_C$  ( $p_{INT} = 0,03$ ),  $PP_P$  ( $p_{INT} = 0,02$ ),  $PP_C$  ( $p_{INT} = 0,01$ ) oraz AG ( $p_{INT} = 0,05$ ). W badanej populacji przeprowadzono analizę asocjacji między parametrami ciśnieniowymi oraz usztywnienia ścian tętnic, z polimorfizmem D/I genu *ACE* w tercylach dobowego wydalania sodu z moczem. W grupie osób homozygotycznych II w porównaniu z nosicielami allelu D, w trzecim tercylu wydalania sodu, obserwowano istotnie wyższe wartości  $SBP_C$  ( $125,6 \pm 2,6$  vs.  $118,3 \pm 1,4$  mm Hg;  $p = 0,02$ ) oraz tendencję do wyższych wartości  $SBP_P$  ( $138,3 \pm 4,3$  vs.  $130,6 \pm 2,3$  mm Hg;  $p = 0,09$ ), czego nie obserwowano w pierwszym i drugim tercylu (ryc. 1). Podobne zależności obserwowano również w odniesieniu do wartości PP:  $PP_C$  ( $42,2 \pm 2,0$  vs.  $33,5 \pm 1,0$  mm Hg;  $p = 0,0001$ ),  $PP_P$  ( $53,1 \pm 1,8$  vs.  $47,7 \pm 1,4$  mm Hg;  $p = 0,0004$ ) oraz  $PP_A$  ( $50,1 \pm 1,1$  vs.  $47,8 \pm 0,8$  mm Hg;  $p = 0,005$ ) (ryc. 2). Analizując parametry usztywnienia ścian tętnic, w trzecim tercylu wydalania sodu z moczem, u osób homozygotycznych II w porównaniu z nosicielami allelu D genu *ACE* stwierdzono wyższe wartości AG ( $9,4 \pm 1,2$  vs.  $6,0 \pm 0,6$  mm Hg;  $p = 0,02$ ) oraz wskaźnika  $AIx_C$  ( $20,1 \pm 2,4$  vs.  $16,1 \pm 1,0\%$ ;  $p = 0,07$ ). Powyższych zależności nie obserwowano w pierwszym oraz drugim tercylu wydalania sodu (ryc. 3).

W badanej populacji nie stwierdzono interakcji polimorfizmów G-6A genu *AGT* ( $p \geq 0,12$ ) i A1166C genu *AGT1R* ( $p \geq 0,10$ ) z dobowym wydalaniem sodu, w warunkowaniu badanych fenotypów ciśnieniowych i naczyniowych.

## Dyskusja

Dotychczasowe badania związku polimorfizmu D/I genu *ACE* z nadciśnieniem tętniczym, powikłaniami układu sercowo-naczyniowego oraz z usztywnieniem ścian dużych tętnic dostarczyły rozbieżnych danych. Część badaczy nie wykazała istotnego związku między polimorfizmem D/I a wysokością ciśnienia tętniczego [20], część wskazała na rolę allelu I [21], a pozostała — na wpływ allelu D [9], zwłaszcza w grupie mężczyzn [22]. Również łączne analizy dostępnych prac badawczych poruszających problematykę związku polimorfizmu D/I z nadciśnieniem tętniczym nie potwierdziły powyższej zależności [23]. Także wśród doniesień analizujących wpływ polimorfizmu D/I na wskaźniki usztywnienia ścian tętnic, gdzie największą uwagę poświęcono parametrom grubości kompleksu błony środkowej

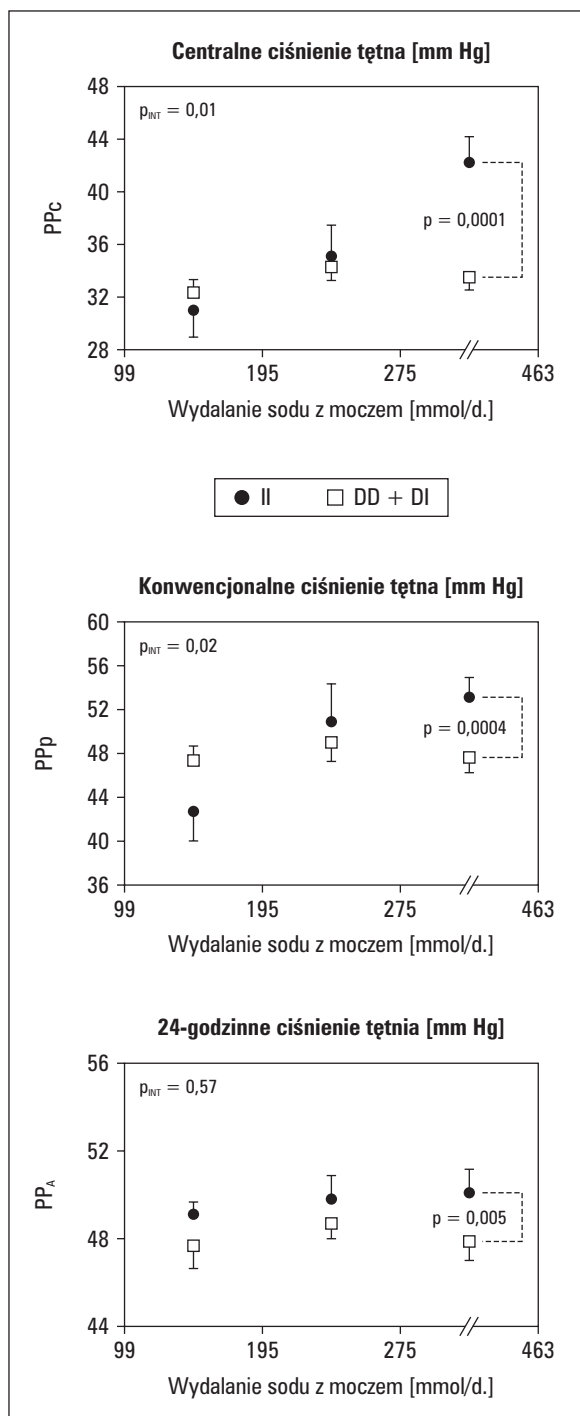


**Rycina 1.** Analiza asocjacji centralnego i obwodowego ciśnienia skurczowego z polimorfizmem D/I genu *ACE* w badanej populacji, w tercylach 24-godzinnej wydalania sodu z moczem. Dane przedstawiają wystandaryzowane średnie arytmetyczne  $\pm$  SE  $p_{INT}$  — dla interakcji między genotypem *ACE* i 24-godzinnym wydalaniem sodu z moczem

**Figure 1.** Association of central and conventional systolic blood pressure with *ACE* D/I polymorphism in tertiles of 24-hours urinary sodium excretion. Values are adjusted arithmetic means  $\pm$  SD

$p_{INT}$  — for interaction between *ACE* genotype and 24-hours urinary sodium excretion

i wewnętrznej w tętnicy szyjnej wspólnej (IMT, *intima-media thickness*) [24] i aortalnej prędkości fali tętna (PWV, *pulse wave velocity*) [25], wyniki uzyskane w wielu populacjach dostarczyły rozbieżnych i niejednoznacznych danych. Spośród dalszych parametrów usztywnienia tętnic, Safar i wsp. [26] oceniali zależność między polimorfizmem D/I genu *ACE* a  $PP_P$  w grupie 469 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, nie stwierdzając istotności statystycznej u obu płci. W grupie mężczyzn przed 50 rokiem życia stwierdzono jednak, że zależność między  $PP_P$  a wiekiem

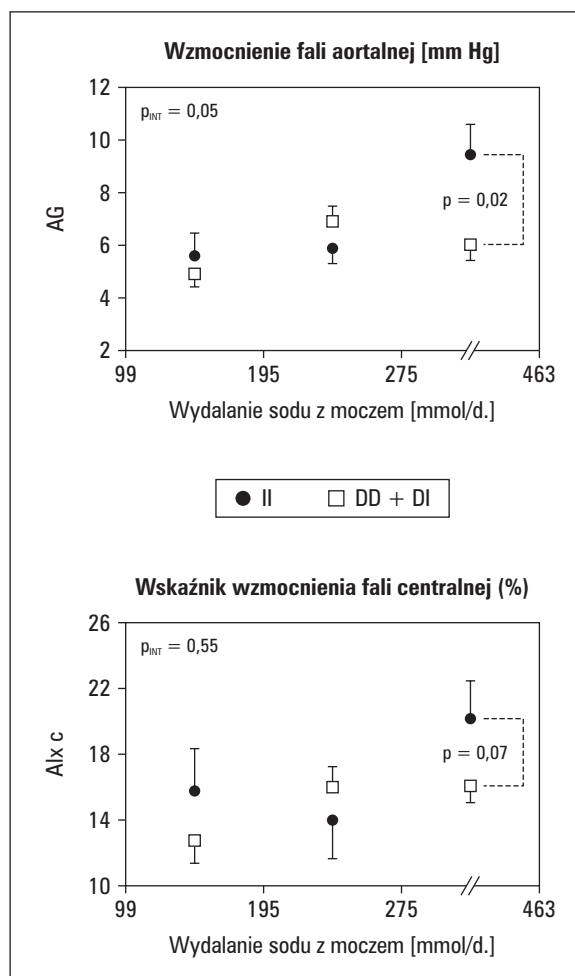


**Rycina 2.** Analiza asocjacji centralnego, konwencjonalnego i 24-godzinnego ciśnienia tętna z polimorfizmem D/I genu *ACE* w badanej populacji, w tercylach 24-godzinnego wydalania sodu z moczem. Dane przedstawiają wystandaryzowane średnie arytmetyczne  $\pm$  SE

$p_{INT}$  — dla interakcji między genotypem *ACE* i 24-godzinnym wydalaniem sodu z moczem

**Figure 2.** Association of central, conventional and 24-h ambulatory pulse pressure with *ACE* polymorphism in tertiles of 24-hours urinary sodium excretion. Values are adjusted arithmetic means  $\pm$  SD

$p_{INT}$  — for interaction between *ACE* genotype and 24-hours urinary sodium excretion



**Rycina 3.** Analiza asocjacji wskaźników usztywnienia ścian dużych tętnic z polimorfizmem D/I genu *ACE* w badanej populacji, w tercylach 24-godzinnego wydalania sodu z moczem. Dane przedstawiają wystandaryzowane średnie arytmetyczne  $\pm$  SE

$p_{INT}$  — dla interakcji między genotypem *ACE* i 24-godzinnym wydalaniem sodu z moczem

**Figure 3.** Association of large artery stiffness parameters with *ACE* D/I polymorphism in tertiles of 24-hour urinary sodium excretion

$p_{INT}$  — for interaction between *ACE* genotype and 24-hours urinary sodium excretion

podlegała wpływowi analizowanego polimorfizmu, z zaznaczonym niekorzystnym wpływem allelu D.

W populacjach krajów wysoko uprzemysłowionych, wśród których częstość nadciśnienia tętniczego jest znacznie większa niż w populacjach krajów nieuprzemysłowionych, uwagę zwracają między innymi znaczące różnice dotyczące ilości spożywanej w diecie soli kuchennej. Największą próbą kliniczną, oceniającą między innymi ilość spożywanej soli kuchennej wśród wielu populacji, było badanie INTERSALT, przeprowadzone w 32 krajach na całym świecie z udziałem ponad 10 000 dorosłych osób



w wieku od 20 do 59 lat. We wszystkich biorących udział w badaniu ośrodkach stosowano wystandaryzowaną metodę oznaczania dobowego wydalania sodu i potasu z moczem. Wydalanie sodu wśród poszczególnych grup pacjentów było bardzo zróżnicowane i wahało się od 0,2 mmol/dobę do 242 mmol/dobę, co wskazało na istnienie dużego zróżnicowania między badanymi populacjami [27]. Dobowe wydalanie sodu z moczem, analizowane w próbkach populacji, w sposób adekwatny odzwierciedla ilość sodu przyjmowanego w diecie [15].

Informacje dotyczące niekorzystnego wpływu nadmiernego spożycia soli kuchennej na rozwój nadciśnienia tętniczego pochodzą z badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych [28] oraz z badań epidemiologicznych [29], wskazujących na istnienie dodatniej korelacji między ilością spożywanego sodu a SBP (lecz nie DBP). W niedawno opublikowanym badaniu du Cailara i wsp. [30] wykazano także, że wzrost konsumpcji sodu wiąże się w sposób niezależny ze wzrostem PP<sub>p</sub>. W odniesieniu do parametrów usztywnienia ścian tętnic, w pionierskich badaniach przeprowadzonych w populacji chińskiej, Avolio i wsp. [31] wykazali, że zwiększone spożycie soli kuchennej (13,3 g NaCl/dobę *vs.* 7,3 g NaCl/dobę) wiązało się z istotnie większym usztywnieniem ściany aorty, ocenianym przy zastosowaniu metody PWV, niezależnie od wieku i ciśnienia tętniczego. Ten sam autor w kolejnym badaniu, przeprowadzonym w populacji osób rasy białej z prawidłowymi wartościami ciśnienia, potwierdził wcześniejsze doniesienie [32].

Biorąc pod uwagę bardzo wysokie spożycie soli kuchennej w analizowanej populacji, mające odbicie w dobowym wydalaniu sodu z moczem wynoszącym  $241,4 \pm 84,1$  mmol/l (który to wynik praktycznie pokrywa się z najwyższą wartością 24-godzinne go wydalania sodu z moczem uzyskaną w badaniu INTERSALT) [27], można stwierdzić, iż populacja regionu krakowskiego w znacznym stopniu jest narażona na rozwój nadciśnienia tętniczego oraz na przebudowę ścian naczyń tętniczych związaną z nadmiernym spożyciem soli kuchennej. Narażenie to prawdopodobnie zależy także od czynników genetycznych.

Wpływ soli kuchennej na aktywność ACE, stężenie ANG II oraz na ekspresję polimorfizmów układu RAA, w odniesieniu do wartości ciśnień tętniczych oraz procesów przebudowy, nie jest do końca poznany. Część badaczy uważa, iż osoczowa aktywność ACE nie zmienia się pod wpływem wahań podaży soli [33]. Bardzo ciekawe dane uzyskali Schmieder i wsp. [34] w badaniu przeprowadzonym w grupie osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, gdzie

poddano analizie zależność między spożyciem soli (ocenianym jako dobowe wydalanie sodu z moczem) a osoczym stężeniem ANG II, w odniesieniu do parametrów przebudowy mięśnia sercowego. W analizowanej populacji wykazano zależność polegającą na obniżeniu osocznego stężenia ANG II pod wpływem zwiększonej podaży soli kuchennej. Uwzględniając powyższą zależność, badaną grupę podzielono na tercyle na podstawie względnie wysokiego, średniego oraz niskiego stężenia ANG II w surowicy w odniesieniu do odpowiadającego im dobowego wydalania sodu z moczem. Uzyskane wyniki wskazały, że osoby z nieadekwatnie wysokim (w odniesieniu do dobowej podaży soli) osoczym stężeniem ANG II charakteryzowały się istotnie statystycznie większymi parametrami przerostu lewej komory, a opisana dysregulacja w zakresie osocznego układu RAA mogła wiązać się z procesami przerostu i przebudowy w zakresie układu sercowo-naczyniowego.

Wśród analizowanych polimorfizmów najwięcej interesujących danych uzyskano dla polimorfizmu D/I genu *ACE*. Liczne badania dostarczyły jednoznacznych informacji dotyczących związku polimorfizmu D/I ze stężeniem ACE, wykazując istnienie silnej, dodatniej korelacji między obecnością allelu D a osoczym [35], wewnątrzlimfocytarnym [36] oraz wewnątrztkankowym [37] stężeniem ACE. Osoczowe stężenie ACE jest o około 60% wyższe u osób homozygotycznych DD niż u homozygotycznych II, przyjmując wartości pośrednie dla osób heterozygotycznych. W badaniach Uedy i wsp. [38] oraz Browna i wsp. [39] wykazano, że dożylna infuzja ANG I wiązała się z istotnie większym wzrostem stężenia ANG II we krwi u osób homozygotycznych DD w porównaniu z homozygotycznymi II, co pośrednio potwierdza obecność podwyższonego stężenia osocznego ACE u osób homozygotycznych DD. Część badaczy uważa, że wzrost stężenia ACE w surowicy i w tkankach może predysponować do nasilenia konwersji ANG I do ANG II, skutkującej nasileniem wazokonstrykcji i procesów przebudowy [40].

W badanej populacji regionu krakowskiego uzyskano dane świadczące o ochronnym wpływie allelu D polimorfizmu D/I genu *ACE* na rozwój nadciśnienia tętniczego oraz na procesy przebudowy ścian tętnic. Wykazano, że ten efekt jest uwarunkowany interakcją zachodzącą między polimorfizmem D/I a czynnikiem środowiskowym — zawartością sodu w diecie. W trzecim tercylu dobowego wydalania sodu z moczem, w grupie osób homozygotycznych II, w porównaniu z nosicielami allelu D, obserwowano istotnie wyższe wartości SBP i PP (uzyskane metodą konwencjonalną, podczas 24-godzinne go zapisu i metodą analizy fali tętna) oraz wyższe wskaźniki

usztynienia ścian dużych tętnic, czego nie obserwowano w pierwszym i drugim tercylu wydalania sodu. Powyższej interakcji, w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych oraz przebudowy, nie wykazano dla polimorfizmów G-6A genu *AGT* i A1166C genu *AGTIR*.

Związek polimorfizmu D/I z sodowrażliwością ciśnienia tętniczego analizowano w wielu populacjach. W grupie sodowrażliwych, japońskich pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym wykazano istotnie statystycznie większą częstość allelu I w porównaniu z osobami sodoniewrażliwymi. Stwierdzono także, że genotyp II, w porównaniu z genotypami DD i DI, w sposób istotny zwiększał ryzyko sodowrażliwości ciśnienia tętniczego [41]. W grupie hiszpańskich pacjentów z nadciśnieniem tętniczym uzyskano podobne dane. W populacji spożywającej dietę z wysoką zawartością sodu wykazano ponadto istotnie wyższy wzrost wartości dobowego SBP i DBP u osób homozygotycznych II w porównaniu z homozygotycznymi DD, z pośrednim wzrostem ciśnień w grupie osób heterozygotycznych [42]. Ten sam zespół badaczy w większej grupie badanych osób potwierdził wcześniejsze doniesienie [43]. Mimo że w dostępnym piśmiennictwie brakuje danych dotyczących łącznego wpływu polimorfizmu D/I genu *ACE* i sodu na parametry usztynienia ścian naczyń, wyniki zbieżne z uzyskanymi dla wartości ciśnienia tętniczego otrzymano dla masy lewej komory. W jednej z analiz programu EPOGH Kuznetsova i wsp. [11] wykazali, że zależność między polimorfizmem D/I genu *ACE* a wskaźnikiem masy lewej komory różniła się pomiędzy populacjami europejskimi, najprawdopodobniej wskutek odmiennych mechanizmów regulacyjnych uwarunkowanych różnicami w zawartości soli w diecie, ocenianej na podstawie wyniku 24-godzinnej zbiórki moczu (Słowianie 229 mmol/d. vs. Włosi 186 mmol/d.). Stwierdzono, że w ogólnej populacji Słowian (Polacy i Rosjanie) w porównaniu z Włochami, wskaźnik masy lewej komory był istotnie wyższy u osób homozygotycznych II, podczas gdy przeciwną tendencję obserwowano w populacji włoskiej. Ponadto wśród potomstwa populacji słowiańskich zaobserwowano bardzo ciekawą zależność, polegającą na wzroście wskaźnika masy lewej komory u osób homozygotycznych II wraz ze wzrostem spożycia sodu, co jest zbieżne z wynikami uzyskanymi w analizowanej populacji.

Wykazany w prezentowanej w niniejszej pracy analizowanej populacji ochronny wpływ allelu D genu *ACE* na proces usztynienia ścian dużych tętnic przy wysokim spożyciu sodu w diecie wynika najprawdopodobniej z faktu, że homozygotyczność II prowadzi do upośledzenia plastyczności układu

RAA, co charakteryzuje się upośledzeniem spadku stężenia ANG II w surowicy i tkankach w odpowiedzi na wzrost obciążenia sodem. Wyniki badania potwierdzają więc tezę, że ekspresja polimorfizmu D/I genu *ACE* w znaczącej mierze zależy od wpływu dodatkowych czynników modulujących, w tym między innymi zawartości sodu w diecie.

## Wnioski

Polimorfizm D/I genu *ACE*, w odróżnieniu od polimorfizmów G-6A genu *AGT* i A1166C genu *AGTIR*, wykazuje istotny wpływ na wybrane parametry ciśnieniowe oraz przebudowy ścian tętnic. Homozygotyczność w zakresie allelu D w porównaniu z osobami homozygotycznymi II współlistnieje z istotnie niższymi wartościami aortalnego SBP i PP w populacji ogólnej, w podgrupach rodziców i dzieci oraz dobowego SBP i PP w podgrupie rodziców, z pośrednimi wartościami w grupie osób heterozygotycznych. Wykazane zależności przemawiają za dominującym modelem efektu fenotypowego polimorfizmu D/I genu *ACE* w populacji rodzin regionu krakowskiego.

W badanej populacji, w odniesieniu do parametrów ciśnieniowych oraz usztynienia ścian tętnic, stwierdzono istotne statystycznie interakcje między polimorfizmem D/I genu *ACE* a dobowym wydalaniem sodu z moczem, wskazujące na ochronną rolę allelu D w grupie osób z wysokim dobowym spożyciem sodu. Podobnych interakcji nie stwierdzono dla polimorfizmów G-6A genu *AGT* i A1166C genu *AGTIR*.

## Streszczenie

**Wstęp** Celem pracy było ustalenie związku polimorfizmów G-6A genu *AGT*, D/I genu *ACE* i A1166C genu *AGTIR* z wartościami ciśnienia tętniczego i usztynienia dużych tętnic oraz ocena zależności między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi i ich łącznego wpływu na analizowane parametry.

**Materiał i metody** Badaniem objęto 52 rodziny (82 rodziców i 103 dzieci). U każdego uczestnika dokonano pomiarów ciśnienia tętniczego: obwodowego (metoda konwencjonalna i zapis 24-godzinny) i centralnego (analiza fali tętna), a także właściwości elastycznych dużych tętnic. U osób uczestniczących w badaniu oznaczono dobowe wydalanie sodu z moczem oraz wykonano analizy genetyczne.

**Wyniki** Analizy dotyczące pojedynczych polimorfizmów wykazały zależność między polimorfizmem

D/I genu *ACE* a 24-godzinnym i centralnym ciśnieniem skurczowym (SBP<sub>A</sub>, SBP<sub>C</sub>) i tętna (PP<sub>A</sub>, PP<sub>C</sub>). Ponadto wykazano obecność istotnych statystycznie interakcji między polimorfizmem D/I genu *ACE* a dobowym wydalaniem sodu z moczem w odniesieniu do SBP<sub>C</sub>, konwencjonalnego ciśnienia tętna (PP<sub>P</sub>), PP<sub>C</sub> oraz wzmocnienia fali aortalnej (AG). W analizie asocjacji przeprowadzonej między parametrami ciśnieniowymi i usztywnienia ścian naczyń a polimorfizmem D/I w tercyłach dobowego wydalania sodu z moczem, w grupie osób homozygotycznych II w porównaniu z nosicielami allelu D, w trzecim tercyłu wydalania sodu, obserwowano istotnie statystyczne wyższe wartości SBP<sub>C</sub>, PP<sub>P</sub>, PP<sub>A</sub>, PP<sub>C</sub> oraz AG, czego nie obserwowano w pierwszym i drugim tercyłu.

**Wnioski** W badanej populacji wykazano istotne interakcje między polimorfizmem D/I genu *ACE* a dobowym wydalaniem sodu z moczem w zakresie wpływu na ciśnienie tętnicze i sztywność tętnic. Allel D genu *ACE* wykazywał ochronną rolę w grupie osób z wysokim dobowym spożyciem sodu.

**słowa kluczowe:** ACE, polimorfizm D/I, ciśnienie tętnicze, sztywność tętnic, spożycie sodu

*Nadciśnienie Tętnicze 2006, tom 10, nr 2, strony 99–110.*

## Piśmiennictwo

- Barlassina C., Lanzani C., Manunta P. i wsp. Genetics of essential hypertension: from families to genes. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 155–164.
- Staessen J.A., Wang J.G., Bianchi G. i wsp. Essential hypertension. *Lancet* 2003; 361: 1629–1641.
- Keller G., Zimmer G., Mall G. i wsp. Nephron number in patients with primary hypertension. *N. Eng. J. Med.* 2003; 348: 101–108.
- Matsubara M. Genetic determination of human essential hypertension. *Tohoku J. Exp. Med.* 2000; 192: 19–33.
- Jeunemaitre X., Soubrier F., Kotelevtsev Y.V. i wsp. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 1992; 71: 169–180.
- Inoue I., Nakajima T., Williams C.S. i wsp. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J. Clin. Invest.* 1997; 99: 1786–1797.
- Province M.A., Boerwinkle E., Chakravarti A. i wsp. Lack of association of the angiotensinogen-6 polymorphism with blood pressure levels in the comprehensive NHLBI Family Blood Pressure Program. *National Heart, Lung and Blood Institute. J. Hypertens.* 2000; 18: 867–876.
- Sethi A.A., Nordestgaard B.G., Gronholdt M.L.M. i wsp. Angiotensinogen single nucleotide polymorphisms, elevated blood pressure, and risk of cardiovascular disease. *Hypertension* 2003; 41: 1202–1211.
- Wang J.G., Staessen J.A. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system: relevance for susceptibility to cardiovascular disease. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 410: 289–302.
- Kawecka-Jaszcz K. European Project on Genes in Hypertension (EPOGH) — informacje o programie. *Nadciśnienie Tętnicze* 2000; 4: 221–223.
- Kuznetsova T., Staessen J.A., Stolarz K. i wsp. Relationship between left ventricular mass and the ACE D/I polymorphism varies according to sodium intake. *J. Hypertens.* 2004; 22: 287–295.
- Kuznetsova T., Staessen J.A., Brand E. i wsp. Sodium excretion as a modulator of genetic associations with cardiovascular phenotypes in the European Project on Genes in Hypertension. *J. Hypertens.* 2006; 24: 235–242.
- Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2007; 7 (supl. A): 1–21.
- Nichols W.W., O'Rourke M.F. McDonald's blood flow in arteries theoretical, experimental and Clinical Principles. Wyd. 4. Arnold E, London 1998; 54–113, 201–222, 347–401.
- Luft F.C., Fineberg N.S., Sloan R.S. Estimating dietary sodium intake in individuals receiving a randomly fluctuating intake. *Hypertension* 1982; 4: 805–808.
- Lindpaintner K., Pfeiffer M.A., Kreutz R. i wsp. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischaemic heart disease. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 706–711.
- Paillard F., Chensel D., Brand E. i wsp. Genotype-phenotype relationships for the renin-angiotensin-aldosterone system in a normal population. *Hypertension* 1999; 34: 423–429.
- The SAS Institute. The GENMOD procedure. SAS Online Doc Version 7.1: SAS/STAT. The SAS Institute Inc., Cary, North Caroline, USA: 2000: 1311–1411.
- Abecasis G.R., Cordon L.R., Cookson W.O. A general test of association for quantitative traits in nuclear families. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 66: 279–292.
- Harrap S.B., Tzourio C., Cambien F. i wsp. The ACE I/D polymorphism is not associated with the blood pressure and cardiovascular benefits of ACE inhibition. *Hypertension* 2003; 42: 297–303.
- Tsai C.T., Fallin D., Chiang F.T. i wsp. Angiotensinogen gene haplotype and hypertension. Interaction with ACE gene I allele. *Hypertension* 2003; 41: 9–15.
- O'Donnell C.J., Lindpaintner K., Larson M.G. i wsp. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in man but not in women in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998; 97: 1766–1772.
- Agerholm-Larsen B., Nordestgaard B.G., Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 484–492.
- Hung J., McQuillan B.M., Nidorf M. i wsp. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and carotid wall thickening in a community population. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999; 19: 1969–1974.
- Mattace-Raso F.U.S., van der Cammen T.J.M., Sayed-Tabatabaei F.A. i wsp. Angiotensin-converting enzyme polymorphism and common carotid stiffness. The Rotterdam study. *Atherosclerosis* 2004; 174: 121–126.
- Safar M.E., Lajemi M., Rudnicki A. i wsp. Angiotensin-converting enzyme D/I gene polymorphism and age-related changes in pulse pressure in subjects with hypertension. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 1–5.
- INTERSALT: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results of 24 hour urinary sodium

and potassium excretion. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ* 1988; 297: 319–328.

28. Denton D., Weisinger R., Mundy N.I. i wsp. The effect of increased salt intake on blood pressure of chimpanzees. *Nat. Med.* 1995; 1: 1009–1016.

29. Stamler J., Rose G., Stamler R. i wsp. INTERSALT study findings. Public health and medical card implications. *Hypertension* 1989; 14: 570–577.

30. du Cailar G., Mimran A., Fesler P. i wsp. Dietary sodium and pulse pressure in normotensive and essential hypertensive subjects. *J. Hypertens.* 2004; 22: 697–703.

31. Avolio A.P., Deng F.Q., Li W.Q. i wsp. Effects of aging on arterial distensibility in populations with high and low prevalence of hypertension: comparison between urban and rural communities in China. *Circulation* 1985; 71: 202–210.

32. Avolio A.P., Clyde C.M., Beard T.C. i wsp. Improved arterial distensibility in normotensive subjects on a low salt diet. *Atherosclerosis* 1986; 6: 166–169.

33. van der Kleij F.G.H., de Jong P.E., Henning R.H. i wsp. Enhanced responses of blood pressure, renal function, and aldosterone to angiotensin I in the DD genotype are blunted by low sodium intake. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 1025–1033.

34. Schmieder R.E., Langenfeld M.R.W., Friedrich A. i wsp. Angiotensin II related to sodium excretion modulates left ventricular structure in human essential hypertension. *Circulation* 1996; 94: 1304–1309.

35. Tiret L., Rigat B., Visvikis S. i wsp. Evidence from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am. J. Hum. Genet.* 1992; 51: 197–205.

36. Costerousse O., Allegrini L., Lopez M. i wsp. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. *Biochem. J.* 1993; 290: 33–40.

37. Danser A.H.J., Schalekamp M.A.D.H., Bax W.A. i wsp. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 1995; 92: 1387–1388.

38. Ueda S., Elliott H.L., Morton J.J. i wsp. Enhanced pressor response to angiotensin I in normotensive men with the deletion genotype (DD) for angiotensin-converting enzyme. *Hypertension* 1995; 25: 1266–1269.

39. Brown N.J., Blais C., Gandhi S.J. i wsp. ACE insertion/deletion genotype effects bradykinin metabolism. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; 35: 373–377.

40. Morishita R., Gibbons G.H., Ellison K.H. i wsp. Evidence for direct local effect of angiotensin in vascular hypertrophy. In vivo gene transfer of angiotensin converting enzyme. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 978–984.

41. Hiraga H., Oshima T., Watanabe M. i wsp. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and salt sensitivity in essential hypertension. *Hypertension* 1996; 27: 569–572.

42. Giner V., Poch E., Bragulat E. i wsp. Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and salt sensitivity in essential hypertension. *Hypertension* 2000; 35: 512–517.

43. Poch E., Gonzalez D., Giner V. i wsp. Molecular basis of salt sensitivity in human hypertension. Evaluation of renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms. *Hypertension* 2001; 38: 1204–1209.